金银花提取物对瘤胃体外发酵参数及产气量的影响

唐志文[1]　蒋林树[2]　杨　亮[1]　孙福昱[1]　熊本海[1*]

（1.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所,动物营养学国家重点实验室，北京 100193；2.北京农学院,奶牛营养学北京市重点实验室，北京 102206）

摘　要：本试验旨在探究添加金银花提取物对瘤胃体外发酵参数及产气量的影响。试验选用4头健康、体况相近、安装永久性瘤胃瘘管的荷斯坦奶牛作为试验动物，用于瘤胃液的采集。试验分为5组，对照组发酵底物不添加金银花提取物，试验组在发酵底物中分别添加0.5、1.0、2.0、4.0 mg/g金银花提取物，每组6个重复，试验共重复3个批次。分别于发酵1.5、3.0、6.0、12.0、24.0 h记录产气量，体外发酵24.0 h后，测定瘤胃发酵参数。结果表明：1）添加1.0、2.0、4.0 mg/g金银花提取物可以使发酵液pH及氨态氮（NH_3-N）浓度显著低于对照组（$P<0.05$），并且使发酵液乳酸、微生物蛋白(MCP)、总挥发性脂肪酸(TVFA)浓度以及24.0 h产气量显著高于对照组（$P<0.05$）。2）0.5 mg/g金银花提取物组发酵液pH及NH_3-N、乳酸及TVFA浓度与对照组和其他3个试验组均无显著差异（$P>0.05$），仅发酵液MCP浓度和24.0 h产气量显著高于对照组（$P<0.05$）。结果显示，在体外条件下，添加金银花提取物可以有效调节瘤胃微生物发酵状态，综合经济效益考虑，添加1.0 mg/g金银花提取物最适宜。

关键词：金银花提取物；瘤胃体外发酵；奶牛

中文分类号：S816.7

长久以来，抗生素被作为饲料添加剂用于反刍动物生产，其目的是预防能量代谢疾病，调节瘤胃发酵，提高动物生产性能。但随着生活品质的提高，人们越来越关注抗生素药物残留所引起的问题，如致癌、致畸以及致突变等。2006年，欧盟明确禁止在饲料中添加抗生素。因此，寻求抗生素的替代品成为了国内外学者越来越关注的研究方向。传统中草药富含

收稿日期：2017-07-25

基金项目：国家“十三五”重点研发课题（2016YFD0700205, 2016YFD0700201）

作者简介：唐志文（1992—），男，山西朔州人，硕士研究生，从事反刍动物营养与饲料研究。E-mail: tzwcaas@163.com

*通信作者：熊本海，研究员，博士生导师，E-mail: xiongbenhai@caas.cn

蛋白质、碳水化合物、脂肪和微量元素等，可作为添加剂用于动物生产，而且与其他添加剂相比，传统中草药还具有无毒、无耐药性以及无残留等特点，可以确保动物产品的安全性[1]。但目前研究的可以作为饲料添加剂用于动物生产的中草药并不是很多[2]。因此，可以有效调节瘤胃微生态、提高动物生产性能的新型中草药添加剂备受期待[3]。

金银花又名忍冬花，是忍冬科植物忍冬(*Lonicera japonica* Thunh)的干燥花蕾，它作为一味名贵中草药，被广泛用于制药以及保健食品制作等。金银花中含有有机酸、黄酮、皂苷、挥发油及微量元素等成分，其主要活性成分为绿原酸[4]。研究表明，金银花具有广谱抗菌、抗病毒、抗炎、增强免疫力、保肝利胆等作用[5]。目前，金银花及其提取物已经逐渐应用于畜禽生产。有研究显示，金银花提取物可以改善肉牛抗氧化性能，缓解肉牛热应激反应[6-8]。还有研究显示，金银花不仅可以改善肉鸡生长性能和肠道微生物菌群[9]，而且可以作为微生态调节剂，调整大鼠肠道菌群失调[10-11]。因此，本试验通过瘤胃体外发酵试验，探究金银花提取物对奶牛瘤胃微生物发酵的调控作用，以期为金银花提取物作为饲料添加剂应用于动物生产提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

本试验所用的金银花提取物选购自陕西中鑫生物技术有限公司，其中绿原酸含量为10%。

1.2　试验动物及饲养管理

在北京市诚远盛隆牛场选取4头体况良好、体重相近、安装有永久性瘤胃瘘管的荷斯坦奶牛作为瘤胃液供体。奶牛饲喂该场全混合日粮（TMR）（主要成分为玉米青贮、苜蓿、压片玉米、豆粕、棉籽粕、干酒糟及其可溶物等，精粗比为60∶40），每天07:00和19:30分2次饲喂，自由饮水，自由采食。

1.3　瘤胃体外发酵试验方法

1.3.1　人工唾液盐配制

人工唾液盐各组分参照Menke等[12]方法于试验前1 d配制，组成见表1。各溶液配制好后，按顺序依次加入400 mL蒸馏水、100 μL A溶液、200 mL B溶液、200 mL C溶液、1 mL指示剂和40 mL还原液。充分混匀后持续通入CO_2，直至溶液颜色由粉红变为无色透明，pH调整至6.80为止。使用前39 ℃预热。

表 1　人工唾液盐各组分组成

Table 1　Composition of different component of artificial saliva

项目 Items	组成 Composition
微量元素溶液 Microelement solution (A)	$CaCl_2·2H_2O$ 13.2 g、$MnCl_2·4H_2O$ 10.0 g、$CoCl_2·6H_2O$ 1.0 g、$FeCl_3·6H_2O$ 8.0 g、蒸馏水 100 mL
碳酸盐缓冲液 Buffer bicarbonate（B）	NH_4HCO_3 4.0 g、$NaHCO_3$ 35.0 g、蒸馏水 1 000 mL
磷酸盐缓冲液 Phosphate buffer （C）	Na_2HPO_4 5.7 g、KH_2PO_4 6.2 g、$MgSO_4·H_2O$ 0.6 g、蒸馏水 1 000 mL
指示剂 Indicator	刃天青 0.1 g、蒸馏水 100 mL
还原液 Reduction solution	NaOH 160 mg、$Na_2S·9H_2O$ 625 mg、蒸馏水 100 mL

1.3.2　体外发酵液配制

于晨饲前 2.0 h 进行瘤胃液采集，4 头瘘管奶牛分别采集 500 mL，瘤胃液采集后，用 4 层纱布过滤，并迅速移入预热达 39 ℃并通 CO_2 的保温瓶内，每头牛收集适量食糜置于保温瓶内，用于微生物接种，收集完毕后迅速带回实验室。在实验室内取 4 头牛瘤胃液各 250 mL，将食糜用 2 L 人工唾液盐冲洗 3 次，并用 4 层纱布过滤后与瘤胃液混匀，即完成发酵液的制备，将发酵液置于 39 ℃水浴锅中，持续通入 CO_2 待用。

1.3.3　发酵底物配制

发酵底物组成及营养水平见表 2。

表 2　发酵底物组成及营养水平（干物质基础）

Table 2　Composition and nutrient levels of the fermentation substrate (DM basis)

原料 Ingredients	含量 Content	营养水平 Nutrition levels	含量 Content
玉米青贮 Corn silage	24.2	干物质 DM	91.55
进口苜蓿 Imported alfalfa	15.8	泌乳净能 NE_L/(MJ/kg)	1.53
压片玉米 Squashed corn	29.9	中性洗涤纤维 NDF	34.70
豆粕 Soybean meal	7.1	酸性洗涤纤维 ADF	23.00
棉籽粕 Cottonseed meal	7.1	粗蛋白质 CP	16.40
甜菜粕 Beet meal	5.3	钙 Ca	0.71
干酒糟及其可溶物 DDGS	7.0	磷 P	0.35
预混料 Premix	3.6		
总计 Total	100.0		

每千克预混料含有 One kilogram of premix contained the following:VA 250 000 IU，VD 340 000 IU，VE 1 000 IU，Cu 1 g，Fe 5 g，Mn 4 g，Zn 5 g，Se 0.01 g，I 0.05 g，Co 0.01 g，Mg 50 g。

1.3.4　试验设计

瘤胃体外发酵试验参照 Cherdthong 等[13]的方法，将发酵底物原料配制成 TMR 形式，65 ℃烘干后粉碎，样品经过 1 mm 筛过滤。准确称取约 0.2 g 培养底于 100 mL 玻璃注射器中（涂抹凡士林以保证其气密性），按照随机试验设计，将玻璃注射器分为 5 组，分别向其中添加金银花提取物 0、0.5、1.0、2.0、4.0 mg/g（底物干物质基础），每组包含 6 个重复。在每个玻璃注射器中加入预先混匀并在水浴锅中加热达 39 ℃体外发酵液，将玻璃注射器的空气排尽，于 39 ℃摇床连续培养 24.0 h，试验共重复 3 个批次。

1.3.5　发酵液样本采集及测定

分别于发酵 1.5、3.0、6.0、12.0、24.0 h 记录产气量，发酵 24.0 h 结束后将样品从水浴摇床中取出后置于冰水中，停止培育，然后用**便携式** pH 计（STARTER-300）立即测定 pH。将发酵液过 4 层纱布，分装于 4 支离心管中，其中 3 支按添加 25%的偏磷酸溶液，混匀后于-20 ℃冷冻保存，用于挥发性脂肪酸（VFA）、氨态氮（NH_3-N）以及乳酸浓度的测定，余下 1 支 150×g 离心 15 min，采集上清液用于微生物蛋白（MCP）浓度的测定。

NH_3-N 浓度利用靛酚比色法[14]测定。主要测定步骤如下：在试管中加入 0.05 mL 样品，边混合边加入 2.5 mL 苯酚溶液；加入 2.0 mL 次氯酸钠溶液并摇匀；将试管置于 95 ℃水浴 5 min，60 ℃水浴 10 min；取出冷却后使用天美 UV-2600 紫外分光光度计于 630 nm 下比色。

乳酸浓度采用对羟基联苯比色法[15]测定。主要测定步骤如下：将发酵液（或乳酸标准液，制作标曲）4 000 r/min 离心 10 min，取上清液 5 mL 于试管中，加入 0.5 mL 20%硫酸铜并混匀；取上述溶液 0.5 mL，缓慢加入 6 mL 预冷的浓硫酸，混匀后置于沸水浴中 5 min，取出后迅速置于冰水浴中；加入 0.125 mL 1.5%对羟基联苯溶液，并迅速摇匀，置于 30 ℃水浴中保温 30 min 后置于沸水浴 90 s，取出置于冰水浴中冷却至室温，以蒸馏水为空白使用天美 UV-2600 紫外分光光度计于 565 nm 中比色。

VFA 浓度以外标法[16]测定。使用 Agilent-7890B 气相色谱仪，色谱条件：火焰氢离子检测器，PEG-20M+H_3PO_4 玻璃填充柱，柱温 120 ℃，检测器温度 220 ℃，以氩气作为载气，流速 30 mL/min，由氢气发生器提供氢气，流速 30 mL/min，空气流速 300 mL/min，进样量 2 μL。

MCP 浓度利用嘌呤法[17]测定。主要测定步骤如下。

标准曲线的制作：1）分别称取 5、15、25、35、45 及 55 mg 酵母 RNA 加入 10 mL 离心管中，加入 2 mL 0.6 mol/L $HClO_4$，95 ℃水浴 1.0 h，冷却;2）加入 6 mL 28.5 mmol/L 的 $NH_4H_2PO_4$，95 ℃水浴 15 min，冷却后在 3 000×*g*，4 ℃条件下离心 10 min;3）取 1.6 mL 上清液，加入 6 mL 0.2 mol/L 的 $NH_4H_2PO_4$，用 85%磷酸调整溶液 pH 至 2~3；4）取 3.8 mL 调整 pH 后的溶液，加入 0.2 mL 0.4 mol/L 的 $AgNO_3$ 溶液，混合后于 4 ℃避光过夜;5）第 2 天于 3 000×*g*，4 ℃条件下离心 10 min，弃上清液;用 5 mL pH 为 2 的蒸馏水冲洗沉淀;再于 3 000×*g*，4 ℃条件下离心 10 min，弃上清液;6）向沉淀中加入 5 mL 0.5 mol/L 的 HCl，混匀，95 ℃水浴 30 min 后，3 000×*g* 离心 10 min;7）上清液用 0.5 mol/L HCl 稀释 40 倍后，以 0.5 mol/L HCl 作参比进行比色（使用天美 UV-2600 紫外分光光度计）。

发酵液 MCP 浓度测定：1）取 8 mL 发酵液于 10 mL 离心管中，在 20 000×*g*，4 ℃条件下离心 20 min;弃上清液后加入 2.104 mL 0.6 mol/L $HClO_4$，于 95 ℃水浴 1.0 h 后冷却;2）按照标准曲线制作的步骤 2）~6）操作;3）以 0.5 mol/L HCl 作参比，在 260 nm 下比色，根据吸光度值和标准曲线求出样品中 RNA 测定值;4）根据以下公式计算 MCP 浓度。

微生物蛋白氮(mg/mL)=[RNA 测定值(mg/mL)×17.83%/10%]×稀释倍数；

MCP（mg/mL)=微生物蛋白氮(mg/mL)×6.25。

饲粮和发酵底物干物质、粗蛋白质、粗脂肪、钙、磷含量测定使用实验室常规分析方法进行分析[18]，应用 Van Soest 等[19]的方法测定中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维含量。泌乳净能依据《奶牛饲养标准》（NY/T 34-2004）计算[20],泌乳净能=0.550 1×消化能(MJ/kg)-0.395 8。

1.4 数据统计分析

试验数据经 Excel 2016 进行初步整理后，采用 SAS 9.4 中 Mixed 模型进行进一步分析，并以 $P<0.05$ 为差异显著性判断的标准。

2 结　果

2.1 发酵液 pH 及乳酸、NH_3-N、MCP 浓度

由表 3 可知，1.0、2.0、4.0 mg/g 金银花提取物组的发酵液 pH 显著低于对照组($P<0.05$)，发酵液 NH_3-N 及乳酸浓度均显著高于对照组，且 3 个组之间无显著差异($P>0.05$)，0.5 mg/g 金银花提取物组的发酵液 pH 及乳酸、NH_3-N 浓度与对照组以及其他 3 个试验组均无显著差

异(P>0.05)。试验组发酵液 MCP 浓度均显著高于对照组(P<0.05)，且 2.0、4.0 mg/g 金银花提取物组显著高于 0.5、1.0 mg/g 金银花提取物组(P<0.05)。

表 3　金银花提取物对发酵液 pH 及乳酸、氨态氮、微生物蛋白浓度的影响

Table 3　Effects of honeysuckle extract on pH, and Lactic acid, NH_3-N and MCP concentrations of fermentation fluid

项目 Items	金银花提取物添加水平 Honeysuckle extract supplemental level/(mg/g)					SEM	*P* 值 *P*-value		
	0	0.5	1.0	2.0	4.0		T	L	Q
pH	6.81^{a}	6.79^{ab}	6.78^{b}	6.77^{b}	6.78^{b}	0.004	0.037	0.016	0.250
氨态氮 NH_3-N/（mg/dL）	33.36^{b}	35.23^{ab}	37.29^{a}	36.29^{a}	35.88^{a}	0.377	0.035	0.008	0.090
乳酸 Lactic acid/(mmol/L)	24.75^{b}	24.96^{ab}	25.71^{a}	25.88^{a}	26.11^{a}	0.405	0.045	0.015	0.012
微生物蛋白 MCP/（mg/mL）	0.413^{c}	0.437^{b}	0.443^{b}	0.484^{a}	0.485^{a}	0.005	<0.001	<0.001	0.213

T：处理；L：线性；Q：二次。同行数据肩标不同字母表示差异显著(P<0.05)，相同或无字母表示差异不显著(P>0.05)。下表同。

T： treatment； L： linear； Q： quadric. Values in same row with different letter superscripts mean significant difference (P<0.05), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference (P>0.05). The same as below.

2.2　发酵液 VFA 浓度

由表 4 可知，1.0、2.0、4.0 mg/g 金银花提取物组的发酵液总挥发性脂肪酸(TVFA)浓度显著高于对照组(P<0.05)，0.5 mg/g 金银花提取物组与对照组和其他 3 个试验组均无显著差异(P>0.05)。试验组的发酵液乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸浓度以及乙酸/丙酸与对照组均无显著差异(P>0.05)。

表 4　金银花提取物对发酵液 VFA 浓度的影响

Table 4　Effects of honeysuckle extract on VFA concentration of fermentation fluid

项目 Items	金银花提取物添加水平 Honeysuckle extract supplemental level/(mg/g)					SEM	*P* 值 *P*-value		
	0	0.5	1.0	2.0	4.0		T	L	Q
乙酸 Acetic acid/%	59.73	59.70	60.62	60.96	60.27	0.205	0.260	0.038	0.691
丙酸 Propionic acid/%	23.04	22.63	23.31	22.93	23.20	0.175	0.794	0.845	0.967
异丁酸 Isobutyric acid/%	1.32	1.46	1.25	1.19	1.28	0.040	0.297	0.139	0.271
丁酸 Butyric acid/%	12.14	12.27	11.21	11.36	11.46	0.234	0.551	0.182	0.987
异戊酸 Isovaleric acid/%	2.23	2.27	2.09	2.11	2.17	0.031	0.343	0.104	0.874
戊酸 Valeric acid/%	1.54	1.67	1.52	1.46	1.63	0.057	0.799	0.507	0.483

总挥发性脂肪酸 TVFA/（mmol/L）	68.86[a]	70.17[ab]	72.66[b]	72.69[b]	73.53[b]	0.502	0.033	0.010	0.556
乙酸/丙酸 Acetic acid/propionic acid	2.60	2.65	2.61	2.67	2.60	0.018	0.692	0.360	0.913

2.3 体外发酵产气量动态变化

由表 5 可知，1.0、2.0、4.0 mg/g 金银花提取物组在 1.5、3.0、6.0、12.0、24.0 h 的产气量均显著高于对照组($P<0.05$)，且这 3 组在 1.5、6.0、12.0、24.0 h 几个时间点总产气量无显著差异($P>0.05$)。0.5 mg/g 金银花提取物组在 24.0 h 产气量显著高于对照组($P<0.05$)，而 1.5、3.0、6.0、12.0 h 与对照组无显著差异($P>0.05$)。

表 5 金银花提取物对体外发酵产气量动态变化的影响

Table 5 Effects of honeysuckle extract on the dynamic changes of gas production of *in vitro* fermentation mL

项目 Items	时间 Time/h	金银花提取物添加水平 Honeysuckle extract supplemental level/(mg/g)					SEM	*P* 值 *P*-value		
		0	0.5	1.0	2.0	4.0		T	L	Q
产气量 Gas production/mL	1.5	10.4[a]	11.2[ab]	12.7[b]	12.9[b]	13.1[b]	0.28	0.044	0.021	0.401
	3.0	19.1[a]	19.7[ab]	22.1[b]	21.8[bc]	23.1[c]	0.33	<0.001	0.002	0.626
	6.0	35.8[a]	36.3[a]	38.3[b]	37.9[b]	37.8[b]	0.18	0.017	0.009	0.902
	12.0	50.9[a]	51.5[a]	54.4[b]	54.1[b]	53.8[b]	0.28	0.021	0.003	0.404
	24.0	61.9[a]	63.7[b]	65.3[c]	64.9[bc]	64.5[bc]	0.25	0.026	0.005	0.231

3 讨 论

3.1 金银花提取物对发酵液 pH 及乳酸、NH_3-N、MCP 浓度的影响

反刍动物瘤胃液 pH 受众多因素影响，如唾液分泌量、瘤胃缓冲物质以及有机酸生成、吸收和排出速率等[21]。然而体外发酵系统不受唾液分泌量以及有机酸的吸收、排出速率影响，因此，发酵液内碱性物质(如 NH_3-N)和有机酸的产生成为影响发酵液 pH 的主要因素。1.0、2.0、4.0 mg/g 金银花提取物组的发酵液 pH 显著低于对照组，可能是因为这 3 组乳酸及 TVFA 浓度高于对照组。杨春佳等[10]给大鼠灌服金银花提取物发现，大鼠肠道内双歧杆菌和乳酸杆菌数量均较对照组显著提高。杨丽梅等[9]在肉鸡饮水中添加双黄连蜂胶口服液，其主要成分为金银花、黄芩、连翘以及蜂胶，结果显示，肉鸡肠道内双歧杆菌和乳酸杆菌数量较对照组显著增加。本试验中，1.0、2.0、4.0 mg/g 金银花提取物组的发酵液乳酸浓度显著高于对照组，可能就是因为金银花提取物促进了乳酸产生菌的生长，从而增加乳酸浓度。杨春佳等[10]和杨丽梅等[9]的研究结果显示，金银花及其提取物可以作为益生源调节动物肠道微生物菌群，促进有益菌的增殖，抑制有害菌的生长，也就是说金银花提取物可以促进部分微生物的生长。本试验中，试验组发酵液 MCP 浓度显著高于对照组，可能正是由于金银花提取

物促进了微生物的生长，且促进作用强于抑制作用。NH_3-N 浓度是瘤胃内饲料含氮物质降解及微生物对 NH_3-N 利用的综合反映[22]。本试验中，1.0、2.0、4.0 mg/g 金银花提取物组发酵液 NH_3-N 浓度显著高于对照组，而这 3 组的发酵液 MCP 浓度也显著高于对照组，说明这 3 组 NH_3-N 浓度的升高不是由于微生物对 NH_3-N 利用程度不够，而是因为金银花提取物提高了微生物对发酵底物含氮物质的降解效率。

3.2 金银花提取物对发酵液 VFA 浓度的影响

瘤胃发酵所产生的VFA约占反刍动物吸收能量的70％～80％[23]，其中乙酸、丙酸、丁酸等VFA是瘤胃碳水化合物发酵的主要产物，约占TVFA的95%，VFA的主要作用是为动物生产提供能量以及维持瘤胃环境[24]。本试验中，1.0、2.0、4.0 mg/g金银花提取物组的发酵液TVFA浓度显著高于对照组，说明添加金银花提取物可以促使微生物发酵产生更多VFA，这有利于为动物生产提供更多能量，而这3组发酵液TVFA浓度的显著提高，可能是因为金银花提取物促进了部分微生物繁殖，从而产生更多VFA[10-11]。本试验结果也显示，1.0、2.0、4.0 mg/g金银花提取物组发酵液MCP浓度显著高于对照组。

3.3 金银花提取物对体外发酵产气量动态变化的影响

产气量作为体外发酵体系中评定反刍动物瘤胃微生物发酵的重要指标，它综合性地反映了发酵底物的可发酵程度，表明了瘤胃微生物发酵活动的总体趋势，是反映发酵底物可利用性的综合指标之一[25]。本试验中，1.0、2.0、4.0 mg/g 金银花提取物组在 1.5、3.0、6.0、12.0、24.0 h 的产气量均显著高于对照组，表明添加金银花提取物可以提高瘤胃微生物对发酵底物的利用效率；1.0、2.0、4.0 mg/g 金银花提取物组发酵液 MCP 浓度显著高于对照组，说明添加金银花提取物可以促进瘤胃微生物生长，这可能解释了为什么添加金银花提取物可以提高发酵产气量。

4 结 论

在体外培养条件下，添加 1.0、2.0、4.0 mg/g 金银花提取物可以使 24.0 h 后发酵液 pH 及 NH_3-N 浓度显著降低，并且使发酵液乳酸、MCP、TVFA 浓度以及产气量显著增加，综合经济效益考虑，添加 1.0 mg/g 金银花提取物最适宜。

参考文献：

[1] LIU H W,TONG J M,ZHOU D W,et al.Utilization of Chinese herbal feed additives in animal production[J].Journal of Integrative Agriculture,2011,10(8):1262–1272.

[2] HART K J,YÁÑEZ-RUIZ D R,DUVAL S M,et al.Plant extracts to manipulate rumen fermentation[J].Animal Feed Science and Technology,2009,147(1/2/3):8–35.

[3] TALEBZADEH R,ALIPOUR D,SAHARKHIZ M J,et al.Effect of essential oils of Zataria multiflora on *in vitro* rumen fermentation,protozoal population,growth and enzyme activity of anaerobic fungus isolated from Mehraban sheep[J].Animal Feed Science and Technology,2012,172(3/4):115–124.

[4] 高海成.金银花提取物抗菌作用机制的前期研究[D].硕士学位论文.合肥:合肥工业大学,2011.

[5] 王本祥.现代中药药理学[M].天津:天津科技出版社,1997.

[6] 黄涛.金银花提取物对夏季高温条件下肉牛骨骼肌纤维形态和肌肉品质的影响[D].硕士学位论文.南昌:江西农业大学,2015.

[7] 符运斌,黄涛,瞿明仁,等.金银花提取物对热应激肉牛血清激素及抗氧化指标的影响[J].动物营养学报,2016,28(3):926–931.

[8] 宋小珍,符运斌,黄涛,等.金银花提取物对高温条件下肉牛抗氧化指标和骨骼肌肌纤维结构的影响[J].动物营养学报,2015,27(11):3534–3540.

[9] 杨丽梅,马力,庄金秋,等.双黄连蜂胶口服液对肉鸡生长性能和肠道微生物菌群的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2016(2):127–128.

[10] 杨春佳,苏德望,王跃生,等.金银花对梗阻性黄疸大鼠肠道菌群失调的调整作用[J].中国现代医生,2012,50(24):3–4,9.

[11] 杨春佳,苏德望,王跃生,等.金银花水提物对肠道微生态失调大鼠的调整作用[J].中国微生态学杂志,2012,24(2):132–133,138.

[12] MENKE K H,RAAB L,SALEWSKI A,et al.The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*[J].Journal of Agricultural Science,1979,93(1):217–222.

[13] CHERDTHONG A,WANAPAT M.*In vitro* gas production in rumen fluid of buffalo as affected by urea-calcium mixture in high-quality feed block[J].Animal Science Journal,2014,85(4):420–426.

[14] CZERKAWSKI J W.Chemical composition of microbial matter in the rumen.[J].Journal of the Science of Food & Agriculture,1976,27(7):621–632.

[15] 张龙翔.生化实验方法和技术[M].2版.北京:高等教育出版社,1997.

[16] 戈婷婷.不同组合的功能性寡糖对锦江黄牛瘤胃体外发酵的影响[D].硕士学位论文.南昌:江西农业大学,2011.

[17] 刘晶.饲料果胶对瘤胃微生物菌群结构和微生物蛋白合成影响的研究[D].博士学位论文.杭州:浙江大学,2014.

[18] 李克广,郭全奎.饲料分析检测技术[M].北京:中国农业大学出版社,2015.

[19] VAN SOEST P J,ROBERTSON J B,LEWIS B A.Methods for dietary fiber,neutral detergent fiber,and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition[J].Journal of Dairy Science,1991,74(10):3583–3597.

[20] 中华人民共和国农业部.NY/T 34-2004奶牛饲养标准[S].北京:中国农业出版社,2004.

[21] 韩昊奇,刘大程,高民,等.不同NFC/NDF比对奶山羊瘤胃微生物及瘤胃pH变化的影响[J].畜牧与饲料科学,2011,32(Z1):54–58.

[22] 李袁飞,郝建祥,马艳艳,等.体外瘤胃发酵法评定不同类型饲料的营养价值[J].动物营养学报,2013,25(10):2403–2413.

[23] 丁健,张建刚,王雅倩,等.苜蓿皂苷对瘤胃原虫体外发酵特性的影响[J].中国畜牧杂志,2013,49(19):59–64.

[24] 冯仰廉.反刍动物营养学[M].北京:科学出版社,2004.

[25] 王满红,赵广永.日粮中氨化稻草水平对体外培养发酵甲烷和挥发性脂肪酸产量的影响[J].动物营养学报,2013,25(8):1775–1784.

Effects of Honeysuckle Extract on Rumen *in Vitro* Fermentation Parameters and Gas Production

TANG Zhiwen[1] JIANG Linshu[2] YANG Liang[1] SUN Fuyu[1] XIONG Benhai[1*]

*Corresponding author, professor， E-mail: xiongbenhai@caas.cn

（责任编辑 王智航）

(1. *State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing* 100193, *China;* 2. *Beijing Key Laboratory for Dairy Cow Nutrition, Beijing University of Agriculture, Beijing* 102206, *China*)

Abstract: This experiment was conducted to examine the effects of honeysuckle extract supplementation on rumen *in vitro* fermentation parameters and gas production． Four healthy Holstein cows fitted with permanent ruminal cannulas were used as the donors of rumen fluid. Honeysuckle extract was added in fermentation substrate of different groups at 0 (control), 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mg/g, respectively. Each group had 6 replicates, and the test was repeated for three times. Gas production was recorded after fermented for 1.5， 3.0， 6.0， 12.0 and 24.0 h, respectively; rumen fermentation parameters were determined after fermented for 24.0 h. The results showed as follows: 1) compared with control group, the supplementation of 1.0, 2.0 and 4.0 mg/g honeysuckle extract significantly decreased pH and ammonia nitrogen (NH_3-N) concentration in fermentation fluid (P<0.05), and significantly increased the concentrations of lactic acid, microbial protein (MCP) and total volatile fatty acid, and gas production at 24.0 h (P<0.05). 2) Fermentation fluid pH, and the concentrations of NH_3-N, lactic acid and total volatile fatty acid in 0.5 mg/g honeysuckle extract group were not significantly different from those in control group and the other experimental groups （P>0.05）, only MCP concentration and gas production at 24.0 h were significantly higher than those of control group （P<0.05）. The results indicate that the supplementation of honeysuckle extract can effectively regulate the fermentative state of rumen microorganism under the *in vitro* condition, and considering economic benefit, the optimal supplemental level of honeysuckle extract is 1.0 mg/g.

Key words: honeysuckle extract; rumen *in vitro* fermentation; dairy cow